Aus der pharmakologischen Anstalt der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. K. Bucher)
(Arbeit unter Leitung von P.D. Dr. med. G.L. Floersheim)

PRÜFUNG VON ANTIPHLOGISTICA AN EINER IMMUNOLOGISCHEN ENTZÜNDUNG DES HÜHNCHENS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde.
Vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

von
Karl Martin SEILER
von Tägerig, Kanton Aargau

1966

BASEL 1967

Adressen- und Werbe-Zentrale, Basel

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. K. Bucher
Tag der Promotion:
22. Dezember 1966

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Erschienen in ARCHIVES INTERNATIONALES DE PHARMACODYNAMIE
ET DE THERAPIE 169: 452 (1967)

Archives internationales

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

FONDÉES EN 1894 PAR

E. GLEY, Paris et J. F. HEYMANS, Gent

PUBLIÉES PAR

C. HEYMANS, Gent, A. F. DE SCHAEPDRYVER, Gent, et
G. R. DE VLEESCHHOUWER, Gent, éditeurs

et

U.-G. BIJLSMA, Utrecht.
J. H. BURN, Oxford.
R. HAZARD, Paris.
G. LILJESTRAND, Stockholm.
P. Di MATTEI, Roma.
H. MOLITOR, Rahway.
D. W. RICHARDS, Jr., New York.
E. ROTHLIN, Basel.

AVEC LA COLLABORATION DE

M. Aiazzi Mancini, Firenze; **H. H. Anderson**, Hawaii; **S. Anitchkov**, Leningrad; **E. J. Ariëns**, Nijmegen; **R. B. Arora**, New Delhi; **D. Atanackovic**, Rijeka; **D. M. Aviado**, Philadelphia; **E. Barany**, Uppsala; **Z. M. Bacq**, Liège; **E. Beccari**, Torino; **D. Bennati**, Montevideo; **S. B. Bogdanovic**, Belgrado; **J. R. Boissier**, Paris; **W. M. Booker**, Washington; **B. C. Bose**, Indore; **J. J. Bouckaert**, Gent; **J. P. Bouckaert**, Leuven; **D. Bovet**, Roma; **E. M. Boyd**, Kingston; **F. Bremer**, Bruxelles; **F. Brücke**, Wien; **K. Bucher**, Basel; **A. Carpi**, Roma; **H. Casier**, Gent; **C. Chagas**, Rio de Janeiro; **G. A. Charbon**, Utrecht; **R. Charlier**, Bruxelles; **K. K. Chen**, Indianapolis; **J. Cheymol**, Paris; **Ch. E. Corbett**, Sao Paulo; **H. H. Dale**, London; **M. J. Dallemagne**, Liège; **L. Dautrebande**, Bruxelles; **G. Dawes**, Oxford; **A. L. Delaunois**, Gent; **S. E. de Jongh**, Leiden; **G. Deltour**, Bruxelles; **J. M. Dille**, Seattle; **R. Domenjoz**, Bonn; **L. Donatelli**, Napoli; **N. K. Dutta**, Bombay; **O. Eichler**, Heidelberg; **G. A. Emerson**, Galveston; **A. M. Ernst**, Utrecht; **V. Erspamer**, Parma; **U. S. v. Euler**, Stockholm; **J. K. W. Ferguson**, Toronto; **H. Fredericq**, Liège; **J. H. Gaarenstroom**, Groningen; **E. M. K. Geiling**, Washington; **E. Gellhorn**, Minneapolis; **P. Gengoux**, Cureghem-Bruxelles; **J. Giroux**, Montpellier; **P. Gley**, Paris; **T. Godfraind**, Leuven; **L. Goldberg**, Stockholm; **L. S. Goodman**, Salt Lake City; **F. Hahn**, Freiburg i/Br.; **B. N. Halpern**, Paris; **H. Herken**, Berlin; **H. Hermann**, Lyon; **W. R. Hess**, Zurich; **H. C. Hodge**, Rochester, N.Y.; **J. P. Hoet**, Leuven; **P. Holtz**, Frankfurt a. M.; **B. A. Houssay**, Buenos Aires; **B. Issekutz**, Budapest; **J. Jacob**, Paris; **G. Joachimoglu**, Athènes; **L. N. Katz**, Chicago; **H. Konzett**, Innsbruck; **A. Knoppers**, Rahway, N.J.; **P. Kubikowski**, Warszawa; **Th. Koppanyi**, Washington; **O. Krayer**, Boston; **W. Koskowski**, Alexandria; **J. La Barre**, Bruxelles; **I. S. Langer**, Buenos Aires; **C. D. Leake**, San Francisco; **P. Lechat**, Paris; **L. Lendle**, Göttingen; **A. Loubatières**, Montpellier; **G. Ludany**, Budapest; **P. Mascherpa**, Pavia; **A. S. Marrazzi**, Pittsburgh; **L. Massart**, Gent; **F. Mercier**, Marseille; **K. Mezey**, Rahway, N.J.; **K. O. Møller**, København; **G. Moruzzi**, Pisa; **F. Nashat**, London; **P. Niccolini**, Firenze; **G. Peeters**, Gent; **P. Preziosi**, Napoli; **H. Raskova**, Praha; **J. J. Reuse**, Bruxelles; **R. K. Richards**, North Chicago; **A. P. Richardson**, Atlanta; **M. Rocha e Silva**, Ribeirao-Prêto; **J. Roskam**, Liège; **R. Ruyssen**, Gent; **P. Rylant**, Bruxelles; **N. Sapeika**, Cape Town; **C. F. Schmidt**, Philadelphia; **J. A. Schneider**, Wilmington, Del.; **M. H. Seevers**, Ann Arbor; **J. A. Shannon**, Bethesda; **A. Simonart**, Leuven; **P. Stern**, Sarajevo; **F. G. Sulman**, Jerusalem; **M. L. Tainter**, New York; **C. H. Thienes**, Los Angeles; **E. Trabucchi**, Milano; **B. Uvnäs**, Stockholm; **F. G. Valdecasas**, Barcelona; **G. Valette**, Paris; **L. A. van der Woerd**, Utrecht; **H. B. van Dycke**, New York; **J. M. van Rossum**, Nijmegen; **Z. Votava**, Praha; **R. P. Walton**, Charleston; **S. C. Wang**, New York; **M. Wierzuchowski**, Lodz; **W. Wilbrandt**, Bern; **C. V. Winder**, Detroit.

Publiées avec le concours de la Fondation Universitaire de Belgique et du Gouvernement Belge.

VOLUME 169, NUMBER 2

Published monthly — October 1967

PRÜFUNG VON ANTIPHLOGISTICA AN EINER IMMUNOLOGISCHEN ENTZÜNDUNG DES HÜHNCHENS

VON

K. SEILER

(Arch. int. Pharmacodyn.)

EDITORIAL OFFICE
Albert Baertsoenkaai, 3,
GENT, Belgium

OFFICE INTERNATIONAL DE LIBRAIRIE
30, Avenue Marnix
BRUSSELS, Belgium

AUS DER PHARMAKOLOGISCHEN ANSTALT DER UNIVERSITÄT BASEL, SCHWEIZ

PRÜFUNG VON ANTIPHLOGISTICA AN EINER IMMUNOLOGISCHEN ENTZÜNDUNG DES HÜHNCHENS

VON

K. SEILER

(Eingegangen am 5-1-1967*)*.

Seit einigen Jahren gewinnt die Immunopathologie in der Diskussion um die noch ungeklärte Pathogenese einer Reihe von Krankheiten an Bedeutung (1–4). Die dabei auftretenden pathologischen Prozesse sollen eine Folge von humoralen oder zellulären Immunreaktionen gegen körpereigene Antigene sein. Mit diesen Autoimmunkrankheiten wird auch immer wieder die primär chronische Polyarthritis in Zusammenhang gebracht (2, 5). Die praktische Bedeutung solcher Krankheiten stellt einen besonderen Anreiz zu Untersuchungen über die Beeinflussbarkeit des Immunsystems dar.

Wir haben daher seit einiger Zeit in unserem Institut dieses Problem bearbeitet. Als besonderen Aspekt wählten wir die pharmakologische Beeinflussbarkeit immunologisch vermittelter Entzündungen. Als experimentelle Modelle dienten dazu bisher die Tuberkulin- und die Hauthomotransplantatreaktion (6). Bei diesen beiden Entzündungsmodellen reagiert das Immunsystem des Wirts gegen zugeführte Tuberkulin- bzw. Histokompatibilitätsantigene. Es erschien uns nun wünschenswert, auch ein Modell in die Untersuchung einzubeziehen, bei welchem im Sinne einer „graft-versus-host" Reaktion transplantierte immunologisch kompetente Zellen durch Wirtsantigene zu einer Immunreaktion stimuliert werden. Die pathogenetische Bedeutung solcher Mechanismen wird auch bei immunopathologischen Krankheitsprozessen erwogen (2). Ferner sollten die Untersuchungen einen Beitrag zur Charakterisierung des Wirkungsspektrums von antiinflammatorisch und immunosuppressiv aktiven Pharmaka leisten.

Als Modell einer solchen „graft-versus-host" Reaktion wählten wir die lokale Entzündung, die bei Hühnchen nach i.c. Injektion homologer

Lymphocyten erwachsener Hühner entsteht. Eine solche Reaktion wurde erstmals von COCK und SIMONSEN zufällig beobachtet (7). Diese Autoren untersuchten die Milz- und Lebervergrösserung, die nach i.v. Injektion von Blut homologer erwachsener Hühner in frisch geschlüpften Kücken entstand. Misslang die i.v. Injektion, so bildete sich am Injektionsort ein kleines Knötchen. TERASAKI (8) identifizierte die für diese Reaktion verantwortlichen Zellen als Lymphocyten. Sein Interesse galt besonders der durch i.v. Injektion verursachten Milzvergrösserung, einem Kardinalsymptom der vom Transplantat gegen den Wirt gerichteten Reaktivität. Zudem beschrieb dieser Autor das Auftreten von Hautknötchen, die er mittels i.c. Injektion von Lymphocyten hervorrief. WARNER (9) untersuchte eine gleichartige Reaktion an Hahnenlappen, in denen ein gut messbares Knötchen entstand.

Unter Benützung eines ähnlichen Entzündungsmodells untersuchten wir dessen pharmakologische Beeinflussbarkeit. Ueber erste Ergebnisse haben wir bereits an anderer Stelle berichtet (10). In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir vorwiegend die Effekte antiinflammatorisch wirksamer Stoffe. Weiter prüften wir Pharmaka, die bei der Tuberkulin- und Hauthomotransplantatreaktion eine gewisse Aktivität gezeigt hatten.

MATERIAL UND METHODIK

Lymphocyten aus dem Blut adulter Hühner wurden Hühnchen eines anderen Stammes i.c. injiziert. Die dadurch erzeugte Entzündung wurde auf ihre pharmakologische Beeinflussbarkeit geprüft.

1. *Gewinnung der Lymphocyten.*

Als Spendertiere dienten uns Hühner des Plymouthstamms. Alle Tiere waren 1–2 Jahre alt, und ihr Gewicht betrug 3–4 kg. Als Futter erhielten sie Legehennen-Alleinfutter (SEG).

Die Blutentnahme erfolgte aus der direkt unter der Haut des Flügels verlaufenden Vena cutanea ulnaris. Mit einer spitzen Schere schnitten wir diese Vene 2 cm proximal vom Flügelgelenk an. Das reichlich hervorquellende Blut wurde direkt in ein 14 ml fassendes Zentrifugenröhrchen aufgefangen, dessen Innenwand zuvor mit Heparinlösung benetzt wurde (100 E. Heparin in 0,2 ml NaCl physiol.). Ohne offensichtliche nachteilige Wirkung für das Huhn konnten auf diese Art bis zu 50 ml Blut gewonnen werden. Nach der Entnahme liess sich die Blutung durch Anlegen eines kleinen Wattebauschs unter den angezogenen Flügel leicht stillen.

In Anlehnung an die von JAGO (11) und TERASAKI (8) beschriebenen Methoden der Lymphocytengewinnung aus Blut zentrifugierten wir dieses während 10 Min (1750 g), nachdem es zuvor im Zentrifugenröhrchen 3 mal sachte umgekippt wurde. Durch diese Behandlung sedimentierten die Erythrocyten, während relativ viele Leukocyten im Ueberstand blieben. Den etwa 1/4 bis 1/3 des Gesamtvolumens ausmachenden wolkigen Ueberstand sogen wir ab, nachdem er 1 Min stehen gelassen worden war. Wir benutzten dazu eine dicke Nadel, die bis 1 mm über das Sediment in den Ueberstand getaucht wurde. Um die Lymphocytenausbeute zu verbessern, schwemmten wir das Sediment

erneut bis zum Ausgangsvolumen mit physiologischer Kochsalzlösung auf. Dann durchmischten wir abermals mittels sachtem Umkippen und zentrifugierten diesmal wegen der geringeren Viskosität des mit NaCl verdünnten Plasmas während 5 Min bei gleicher Geschwindigkeit. Nach erneuter Wegnahme des Ueberstands wurde zur Entfernung der Granulocyten der gesamte Ueberstand in nicht silikonisierten Zentrifugengläsern während 30 Min bei 38° C bebrütet. Innerhalb dieser Zeit adhärierten die Granulocyten an der Glaswand. Darauf schütteten wir die verbliebene Lymphocytensuspension in ein silikonisiertes Gefäss. Damit wir die gewünschte Lymphocytenkonzentration erhielten, wurde der Ueberstand zur vollkommenen Abtrennung der Zellen zweimal in silikonisierten Gläsern mit 2000 g während 10 Min zentrifugiert. Schliesslich wurde das Sediment mit der zellfreien Ueberstandsflüssigkeit so verdünnt, dass 0,05 ml die gewünschte Zellzahl enthielten. Mit dieser Methode konnten aus 50 ccm Blut 300 bis 400 $\times$ 10^6 Lymphocyten gewonnen werden.

Zur Vitalitätsprüfung diente Trypanblau. Weniger als 0,5 % der Zellen nahmen den Farbstoff auf. Zur Differenzierung wurden Blutausstriche angefertigt und nach Pappenheim gefärbt. Der Ausstrich zeigte ca. 90 % kleine und ca. 10 % grosse Lymphocyten. Das Verhältnis Lymphocyten zu Erythrocyten betrug ungefähr 2 : 1. Granulocyten fehlten nahezu vollständig.

2. *Injektion der Spenderzellen.*

Als Empfängertiere dienten 3 Wochen alte Hähnchen des Stammes Bovan. Ihre Grosselterntiere entstammten zwei verschiedenen, reingezüchteten Leghornstämmen. Die Elterntiere der Bovanhähnchen waren deren F_1-Hybriden. Das Gewicht der Hähnchen betrug 120 bis 170 g.

Die Injektion der Spenderzellen erfolgte i.c. an der Innenseite des Schenkels. Diese Stelle wurde vorerst von Flaum befreit. Die Injektion führte zu einheitlichen Quaddeln, die für wenige Minuten erhalten blieben. Bei hohen Lymphocytendosen (10 bzw. 20 $\times$ 10^6) war der Entzündungsrückgang oft durch Krusten- und Narbenbildung gestört. 2,5 $\times$ 10^6 Lymphocyten führten noch zu Reaktionen von beträchtlicher Intensität (500 % Dickenzunahme), weshalb wir zur Entzündungsauslösung mehrheitlich diese Dosis wählten (10). Die Zellen wurden in 0,05 ml zellfreier Ueberstandsflüssigkeit inoculiert, die für sich allein zu keiner Reaktion führte.

3. *Verlauf der Reaktion.*

24 Stunden nach der Lymphocyteninjektion bemerkt man am Injektionsort eine etwas indurierte Haut. Die Farbe dieser Stelle unterscheidet sich nicht von der Umgebung. 48 Stunden nach der Injektion ist bereits eine rötliche, einheitliche Papel sichtbar. Nach 72 Stunden verstärkt sich die Reaktion. Die Papel ist erhoben und münzenartig scharf abgegrenzt, aber ihre Farbe wird etwas blasser. Nach 96 Stunden hat die Reaktion ihr Maximum erreicht, sowohl in Bezug auf die Schwellung als auch auf die Ausdehnung (Hautfaltendicke ca. 1,8 mm; Papelfläche ca. 25 mm^2). Die Farbe erscheint gräulich. Nach 120 Stunden nimmt die münzenförmige Papel an Grösse ab, und deren Farbe verändert sich vom gräulichen ins gelbliche. Auch die durch die Entzündung bewirkte Erhebung nimmt ab. Nach 144 Stunden hat sich die Reaktion weiter verringert, um nach 7 bis 8 Tagen ganz abzuklingen. Das Entzündungsknötchen lässt sich immer leicht vom Unterhautgewebe abheben. Die Veränderungen der Papeldicke und der Papelfläche verlaufen gleichsinnig (Abb. 1)..

4. *Bewertung der Reaktion.*

Zur Bestimmung der Entzündungsintensität bewerteten wir die Hautdicke und die Flächenausdehnung des Entzündungsbezirks. Die Dicke beurteilten wir mittels Messung der indurierten Hautfalte. Diese wurde angehoben und 0,5 cm tief zwischen die Backen

einer Schublehre gezogen. Mit leichtem Fingerdruck auf ihre bewegliche Backe wurde die maximale Dicke der Hautfalte bestimmt (6). Die Messungen wurden immer von der gleichen Person ausgeführt. Bei jedem Versuchstier wurde am linken und am rechten Bein je eine Reaktion ausgelöst. Bewertet wurde ihr Durchschnitt. Von den Entzündungsflächen, die annähernd kreis- oder ellipsenförmig erschienen, massen wir die maximalen senkrechten Durchmesser *a* und *b* der Papel und errechneten daraus die Entzündungsfläche nach der Formel : $a/2 \times b/2 \times \pi$. Das Ausmass und der Verlauf der Entzündung waren auffallend konstant. Die Dicke der normalen Hautfalte betrug an den Injektionsorten regelmässig 0,3 mm. Zur Berechnung der Ergebnisse dienten uns die Mittelwerte von je 6 Tieren. In den Tabellen sind die relativen Unterschiede der Hautfaltendicke und Papelfläche in Prozent gegenüber den Kontrollen angegeben. Die Reaktionen wurden über 5 bzw. 6 Tage verfolgt.

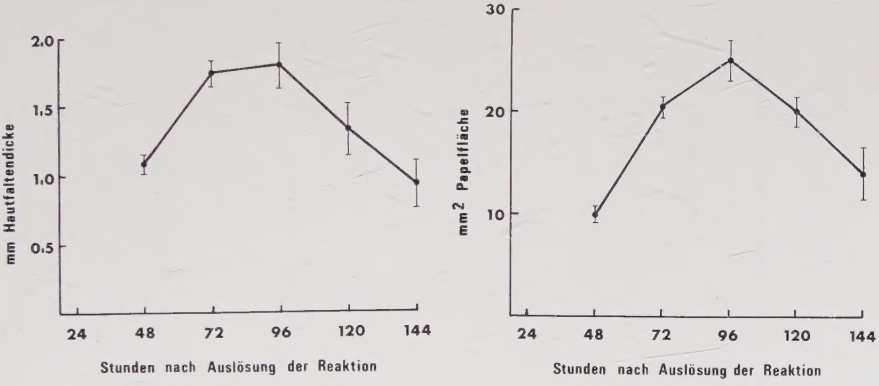

ABB. 1

Entzündungsverlauf bei einer unbehandelten Kontrollgruppe nach i.c. Injektion von $2{,}5 \times 10^6$ Lymphocyten. *Links* ist die Reaktionsstärke an Hand der indurierten Hautfalte beurteilt, *rechts* an Hand der Papelfläche. Die Kurven repräsentieren Mittelwerte von Gruppen zu 6 Tieren. Die normale Hautfaltendicke betrug am Injektionsort regelmässig 0,3 mm. ± S.E.

5. *Applikation der Pharmaka.*

Die Pharmaka wurden erstmals 15 Min vor der Lymphocyteninjektion verabfolgt. An den folgenden Tagen bis zum Ende des Versuchs wurden die angegebenen Dosen zweimal je morgens und abends appliziert. Die höhere Dosis wurde in der Regel so gewählt, dass sie gerade während einer Woche ertragen wurde. Dabei wurde die Gewichtszunahme bei den behandelten Tieren um höchstens 50 % geringer als bei den Kontrollen. Die Injektionen erfolgten s.c. in 0,5 ml/100 g. Wenn nichts anderes erwähnt ist, diente Aq. dest. als Lösungsmittel. Die Kontrolltiere erhielten 0,5 ml/100 g Aq. dest.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse sind in den Tabellen I und II zusammengestellt. Wir untersuchten Antiphlogistica (TABELLE I), Antihistaminica und Antihypertensiva (TABELLE II) und Immunosuppressiva (ABB. 3).

TABELLE Ia

Wirkung von Antiphlogistica auf die Hautfaltendicke

Datum	Lymphocyten i.c. ($\times 10^6$)	Behandlung	Dosis (mg/kg 2 × täglich)	Veränderung der Hautdicke gegenüber den Kontrollen in %				% Unterschied gegenüber dem Gewichtszuwachs der Kontrollen nach 5 Tagen
				48 h	72 h	96 h	120 h	
12.4.	5	Prednisolon	3	−40	−22	−11	−11	−21
23.5.	2,5	Prednisolon	3	−16	−25	−9	+12	−22
12.4.	5	Prednisolon	30	−49	−22	−14	−10	−28
12.4.	5	Chlorochin (1)	15	−28	−15	−9	−3	−27
25.5.	2,5	Chlorochin	15	+3	−23	−16	−26	−14
4.4.	5	Phenylbutazon	60	−12	−11	−15	−8	+7
25.4.	2,5	Phenylbutazon	60	+20	−20	−37	−48	+15
25.4.	2,5	Phenylbutazon	150	−13	−31	−22	−31	−21
9.5.	2,5	Aminophenazon	60	−2	−15	−22	−14	−9
4.4.	5	Na-Salicylat	200	0	+2	−2	+10	−11
2.5.	2,5	Cinchophen-Na	200	−5	+4	+10	+7	−7
13.6.	2,5	Mefenaminsäure (2)	20	−4	0	+4	+11	−8
20.6.	2,5	Mefenaminsäure	80	−1	−2	−3	+6	+28
13.6.	2,5	Indomethacin (3)	2	−4	−7	−3	−10	+2
20.6.	2,5	Indomethacin	8	−6	−2	−16	−11	+17

TABELLE Ib

Wirkung von Antiphlogistica auf die Papelfläche

Datum	Lymphocyten i.c. ($\times 10^6$)	Behandlung	Dosis (mg/kg 2 × täglich)	Veränderung der Papelfläche gegenüber den Kontrollen in %				% Unterschied gegenüber dem Gewichtszuwachs der Kontrollen nach 5 Tagen
				48 h	72 h	96 h	120 h	
12.4.	5	Prednisolon	3	−16	−22	−19	−1	−21
23.5.	2,5	Prednisolon	3	*−28*	*−31*	−21	−16	−22
12.4.	5	Prednisolon	30	*−26*	*−34*	*−40*	*−26*	−28
12.4.	5	Chlorochin (1)	15	*−23*	−24	*−28*	−23	−27
25.4.	2,5	Chlorochin	15	+5	−22	−18	−27	−14
4.4.	5	Phenylbutazon	60	−7	0	−14	−34	+7
25.4.	2,5	Phenylbutazon	60	−4	−14	*−37*	*−42*	+15
25.4.	2,5	Phenylbutazon	150	−21	−22	−8	−11	−21
9.5.	2,5	Aminophenazon	60	−6	−10	−9	−2	−9
4.4.	5	Na-Salicylat	200	+6	+36	+7	−13	−11
2.5.	2,5	Cinchophen-Na	200	+30	+23	+37	−17	−7
13.6.	2,5	Mefenaminsäure (2)	20	+35	+13	+1	+19	−8
20.6.	2,5	Mefenaminsäure	80	+16	−3	+7	−8	+26
13.6.	2,5	Indomethazin (3)	2	+35	+10	+7	+32	+2
20.6.	2,5	Indomethazin	8	+5	−6	−5	−17	+17

Die Werte repräsentieren Durchschnittswerte von Gruppen zu 6 Tieren. Kursiv gesetzte Zahlen: $p < 0{,}05$. — (1) Resochin®. — (2) N-(2,3-Xylyl)-Anthranilsäure (Ponstan®), in 2 ml einer 5 % Gelatinelösung suspendiert und p.o. appliziert. — (3) 1-(*p*-Chlorbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indol-3-essigsäure (Indocid®), in 2 ml einer 5 % Gelatinelösung suspendiert und p.o. appliziert.

TABELLE IIa

Wirkung von Antihistaminica und Antihypertensiva auf die Hautfaltendicke

Datum	Lymphocyten i.c. ($\times 10^6$)	Behandlung	Dosis (mg/kg 2 × täglich)	Veränderung der Hautdicke gegenüber den Kontrollen in %				% Unterschied gegenüber dem Gewichtszuwachs der Kontrollen nach 5 Tagen
				48 h	72 h	96 h	120 h	
			Antihistaminica					
16.5.	2,5	Promethazin (1)	10	+3	+3	0	−1	+13
9.5.	2,5	Promethazin	30	−37	−27	−19	−12	−25
3.9.	2,5	Chlorpromazin	10	−17	−23	−26	−31	−3
29.8.	2,5	Chlorpromazin	30	−31	−22	−14	−14	−20
29.8.	2,5	Diphenhydramin (2)	10	−12	−16	−22	−26	−6
29.8.	2,5	Diphenhydramin	30	−36	−23	−11	+17	−24
29.8.	2,5	Phenindamin (3)	10	0	+2	−7	−19	0
29.8.	2,5	Phenindamin	30	−36	−27	−1	+4	−10
2.5.	2,5	Tripelenamin (4)	30	+8	−1	+16	+22	−24

TABELLE IIa (Fortsetzung)

Wirkung von Antihistaminica und Antihypertensiva auf die Hautfaltendicke

Datum	Lymphocyten i.c. (× 10^6)	Behandlung	Dosis (mg/kg 2 × täglich)	Veränderung der Hautdicke gegenüber den Kontrollen in %				% Unterschied gegenüber dem Gewichtszuwachs der Kontrollen nach 5 Tagen
				48 h	72 h	96 h	120 h	
			Antihypertensiva					
16.5.	2,5	Phenoxybenzamin (5)	20	−27	−22	−16	−16	+5
29.8.	2,5	Phenoxybenzamin	60	*−55*	*−58*	*−52*	*−48*	−33
3.9.	2,5	Azapetin (6)	10	−6	0	−9	−17	0
29.8.	2,5	Azapetin	30	−24	*−25*	−18	−8	−10
3.9.	2,5	Guanethidin (7)	10	−17	−12	−17	−12	−13
3.9.	2,5	Guanethidin	30	−6	−19	−9	+8	−19
			Varia					
23.5.	2,5	Vit. A (8)	1500 E.	0	−11	−6	+14	−23
6.6.	2,5	B. pertussis (9)		*+24*	*+45*	−1	−15	+10

TABELLE IIb

Wirkung von Antihistaminica und Antihypertensiva auf die Papelfläche

Datum	Lymphocyten i.c. (× 10^6)	Behandlung	Dosis (mg/kg 2 × täglich)	Veränderung der Papelfläche gegenüber den Kontrollen in %				% Unterschied gegenüber dem Gewichtszuwachs der Kontrollen nach 5 Tagen
				48 h	72 h	96 h	120 h	
		Antihistaminica						
16.5.	2,5	Promethazin (1)	10	+2	+11	+38	+26	+13
9.5.	2,5	Promethazin	30	−35	−25	−26	−26	−25
3.9.	2,5	Chlorpromazin	10	+13	−4	−11	+2	−3
29.8.	2,5	Chlorpromazin	30	−29	−33	−20	−15	−20
29.8.	2,5	Diphenhydramin (2)	10	−12	−16	−27	−20	−6
29.8.	2,5	Diphenhydramin	30	−24	−18	−6	+14	−24
29.8.	2,5	Phenindamin (3)	10	0	0	−7	+3	0
29.8.	2,5	Phenindamin	30	−31	−28	−9	+6	−10
2.5.	2,5	Tripelenamin (4)	30	+39	−2	+27	+24	−24

TABELLE II*b* (Fortsetzung)

Wirkung von Antihistaminica und Antihypertensiva auf die Papelfläche

Datum	Lymphocyten i.c. (× 10^6)	Behandlung	Dosis (mg/kg 2 × täglich)	Veränderung der Papelfläche gegenüber den Kontrollen in %				% Unterschied gegenüber dem Gewichtszuwachs der Kontrollen nach 5 Tagen
				48 h	72 h	96 h	120 h	
			Antihypertensiva					
16.5.	2,5	Phenoxybenzamin (5)	20	−10	+4	+3	−13	+5
29.8.	2,5	Phenoxybenzamin	60	*−54*	*−40*	*−41*	*−32*	−33
3.9.	2,5	Azapetin (6)	10	+1	−5	−3	+5	0
29.8.	2,5	Azapetin	30	−17	−18	−14	−13	−10
3.9.	2,5	Guanethidin (7)	10	−10	−13	−13	0	−13
3.9.	2,5	Guanethidin	30	−6	−13	−6	+4	−19
			Varia					
23.5.	2,5	Vit. A (8)	1500 E.	−19	−17	+9	+19	−23
6.6.	2,5	B. pertussis (9)		+19	*+52*	+20	+2	+10

Die Werte repräsentieren Durchschnittswerte von Gruppen zu 6 Tieren. Kursiv gesetzte Zahlen: $p < 0{,}05$. — (1) Phenergan®. — (2) Benadryl®. — (3) Thephorin®. — (4) Pyribenzamin®. — (5) Dibenamin®. — (6) Ilidar®. — (7) Ismelin®. — (8) Arovit®. — (9) Pertussis Impfstoff Berna. Einmalige subcutane Applikation von 120 × 10^9 *B. Pertussis* Zellen in 0,3 ml 0,01 % Natr. Hydrargyroaethylthiosalicylic. 48 Stunden vor der Injektion der Lymphocyten.

Von den geprüften Stoffen mit entzündungshemmenden Wirkungskomponenten hatten Prednisolon, Chlorochin und Phenylbutazon eine beträchtliche Wirkung (Abb. 2). Unter der Behandlung mit 3 mg/kg Prednisolon war sowohl die Papeldicke als auch die Papelfläche anfänglich deutlich verkleinert. Im weiteren Verlauf der Entzündung aber nahm die Hemmwirkung ab. Diese Tendenz manifestierte sich auch bei der Dosierung von 30 mg/kg. Eine gegenteilige Wirkung kam mit Phenylbutazon zustande. Bei der Verabreichung von 60 mg/kg wurde

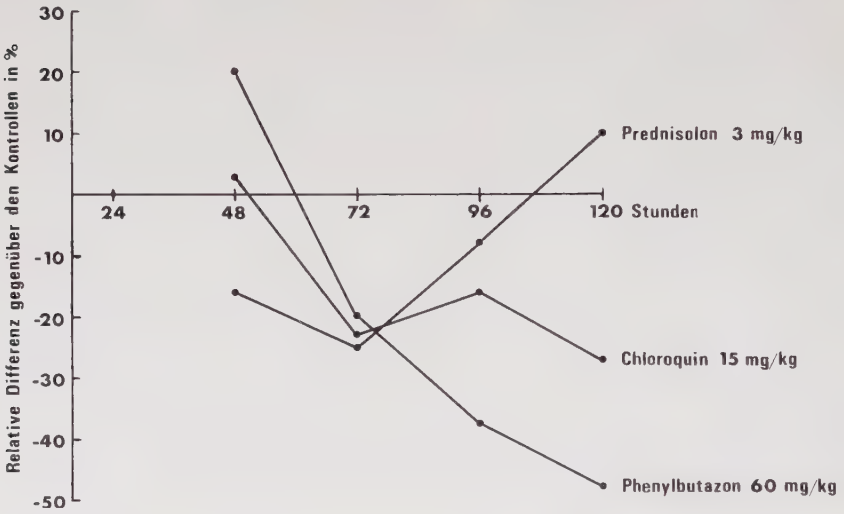

Abb. 2

Beeinflussung des Entzündungsverlaufs durch Antiphlogistica. Die Kurven zeigen die relative Veränderung der Hautfaltendicke im Vergleich zu den Kontrollen. Phenylbutazon hemmt besonders die spätere Phase der Entzündung, während beim Prednisolon die Hemmwirkung eher in der Anfangsphase liegt (Siehe Tab. I).

erst in der späteren Phase der Entzündung eine Verminderung gemessen, die bis zu 40–50 % betrug. Der Antimalariastoff Chlorochin dagegen entfaltete eine gleichmässige Wirkung während des ganzen Entzündungsverlaufs. In der Dosis von 15 mg/kg betrug die Hemmung ca. 25 %. Einen angedeuteten Effekt hatte Aminophenazon. Wirkungslos unter den gegebenen Bedingungen blieben Na-Salicylat, Cincophen-Na, Mefenaminsäure und Indomethazin.

In der 2. Serie untersuchten wir zwei Stoffgruppen, von denen einzelne Vertreter bei der Tuberkulinreaktion gewisse Effekte gezeigt hatten (12). Wir prüften daher Antihistaminica, Antihypertensiva und schliesslich vereinzelte weitere Stoffe.

Die Antihistaminica Promethazin, Diphenhydramin, Phenindamin,

sowie Chlorpromazin waren in der Dosierung von 30 mg/kg in den Anfangsstadien der Entzündung wirksam. Pyribenzamin hatte in der gleichen Dosierung keinen Effekt. Es zeigte sogar eher eine Steigerung der Entzündung.

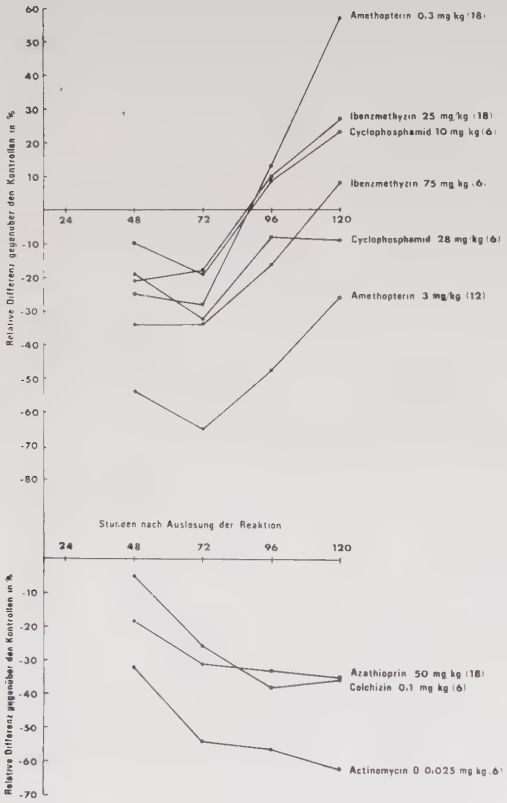

Abb. 3

Beeinflussung des Entzündungsverlaufs durch Immunosuppressiva. Die Kurven zeigen die relative Veränderung der Hautfaltendicke im Vergleich zu den Kontrollen. *Oben*: Immunosuppressiva mit initial starker und später abnehmender Hemmwirkung. *Unten*: Immunosuppressiva mit während des Entzündungsverlaufs zunehmender Hemmwirkung. Zahlen in Klammern: Anzahl Hühnchen.

Von den Antihypertensiva hatte das Adrenolyticum Phenoxybenzamin, ein α-Rezeptorenblocker, einen starken Hemmeffekt. Die Wirkung dieses Stoffs erstreckte sich über den ganzen Verlauf der Entzündung und betrug bei einer Dosierung von 60 mg/kg rund 50 %. Bei Azapetin, einem dem Phenoxybenzamin nahe verwandten Stoff, lag die maximal tolerierte Dosis bei 30 mg/kg. Das Pharmakon verursachte eine schwache

Hemmwirkung. Guanethidin, ein chemisch verschieden strukturiertes Antihypertensivum zeigte kaum einen Effekt.

Bei der Behandlung der Kücken mit Vitamin A ergab sich keine Wirkung auf das Entzündungsgeschehen. Die Injektion von B. pertussis Vaccine, das wir 48 Stunden vor der Lymphocytenapplikation gaben, steigerte die Reaktion in den Anfangsstadien um 45 %.

Die Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse, die wir unter der Behandlung mit Immunosuppressiva erhielten. Von den Resultaten, die an anderer Stelle näher erörtert sind (10), ist im besonderen hervorzuheben, dass Azathioprin, Colchizin und Actinomycin D die Entzündung im ganzen Verlauf hemmten. Amethopterin, Ibenzmethyzin und Cyclophosphamid hingegen hemmten die Entzündung wohl in den Anfangsstadien, steigerten dann aber in niedrigeren Dosierungen die Reaktion in späteren Stadien.

Diskussion

Zur Auffindung von Stoffen mit antiinflammatorischen Wirkungskomponenten bediente sich die pharmakologische Forschung bisher vorwiegend chemisch oder physikalisch provozierter Entzündungen. Neuere Ansichten über eine mögliche immunopathologische Genese chronisch-entzündlicher Krankheitszustände lassen es aber als empfehlenswert erscheinen, auch experimentell immunogene Modellentzündungen zu verwenden.

Wir arbeiteten mit einer Reaktion, deren Pathogenese als immunologisch angesehen werden muss. Dies kann aus der Tatsache geschlossen werden, dass nach Injektion autologer Lymphocyten keine entzündliche Reaktion erfolgt (13). Einen weiteren Hinweis liefern die pyroninophilen Zellen, deren Auftreten als typisch für zellulär vermittelte Immunreaktionen gilt (10, 14, 15). Ferner folgern wir, dass es sich hier um eine immunologische Reaktion vom „graft-versus-host" Typ handelt. Werden nämlich Lymphocyten ein zweites mal in die Haut des gleichen Wirts injiziert, entsteht praktisch keine Reaktion mehr. Würde der Wirt vorwiegend gegen Spenderantigene reagieren, so wäre bei einer Zweitreaktion eher eine verstärkte Läsion zu erwarten (8). Auch konnten wir früher zeigen, dass funktionell geschädigte Lymphocyten nur eine stark reduzierte Reaktion auslösen (10).

Von der Tuberkulinreaktion unterscheidet sich die Lymphocyten-Transfer-Reaktion abgesehen von ihrer verschiedenen Pathogenese sowohl zeitlich als auch histologisch. Die Tuberkulinreaktion gehört zu den Ueberempfindlichkeitsreaktionen vom verzögerten Typ. Sie tritt

nach ca. 6–8 Stunden auf, und erreicht ihr Maximum nach 24–48 Stunden. Histologisch finden wir histiocytäre Zellelemente, die in lokkeren Haufen im Gewebe liegen (16). Die vorliegende Reaktion wird erst nach 24 Stunden sichtbar und verläuft über ca. 8 Tage. Ihr Maximum erreicht sie nach ungefähr 96 Stunden. Im histologischen Bild finden sich massive granulomatöse Zellanhäufungen. Während bei der Tuberkulinreaktion vasculäre Faktoren eine wichtige Rolle spielen, dürften sie bei der vorliegenden Reaktion von geringerer Bedeutung sein. Ferner kann der Verlauf der Entzündung über einige Tage als Vorteil gewertet werden. Er erlaubt festzustellen, in welchem Entzündungsstadium ein Stoff besonders aktiv ist. Dadurch lassen sich möglicherweise differenzierte Wirkungspotenzen antiinflammatorisch wirksamer Pharmaka aufdecken.

Von den untersuchten Substanzen vermochte Prednisolon vorwiegend das Anfangsstadium der Entzündung zu hemmen. Die lymphocytolytische Wirkung, die Verringerung der Zellauswanderung aus Kapillaren oder der stabilisierende Effekt auf die Lysosomenmembranen der reagierenden Zellen könnten für die verminderte Reaktivität verantwortlich sein. Beim Prednisolon nahm, wie auch bei einer Gruppe von Cytostatica, der Hemmeffekt in der zweiten Hälfte der Entzündung ab. Es ist möglich, dass die Rolle der Fibroblasten bei der Auflösung der zellulären Granulome durch diese Stoffe besonders stark beeinträchtigt wird (17). Die bei Hühnchen unter Behandlung mit Nebennierenrindenhormonen auftretende Wachstumshemmung (18) manifestierte sich mit Prednisolon in der Dosis von 30 mg/kg besonders deutlich. Um eine Glucocortikoidwirkung dürfte es sich auch bei der Veränderung des Hahnenkamms handeln, der anschwoll und eine orangene Farbe annahm.

Chlorochin, das schon die Tuberkulinreaktion gehemmt hatte (12), wirkte ebenfalls in unserem Modell. Es scheint daher, dass dieser Stoff gewisse Potenzen hat, immunogene Entzündungen zu beeinflussen.

Phenylbutazon zeigte einen Hemmeffekt, der in der zweiten Hälfte des Entzündungsverlaufs eher zunahm. Von ähnlichem Wirkungstyp waren Actinomycin D, Colchizin und Azathioprin. Da bei der Verabreichung von 150 mg/kg Phenylbutazon die Wirkung nicht mehr zunahm, und sich zudem toxische Effekte (Wachstumshemmung) manifestierten, dürfte das Pharmakon-bedingte Maximum nahe der niedrigen Dosierung liegen.

Aminophenazon zeigte in einer beim Phenylbutazon stark wirksamen Dosis nur eine angedeutete Aktivität. Die übrigen Antiphlogistica waren selbst in hoher Dosierung wirkungslos. Bei den Stoffen Mefenaminsäure und Indomethazin lag die angewante Dosis über den in anderen ex-

perimentellen Anordnungen effektiven Konzentrationen. Offenbar treten bei immunologischen Entzündungen elementare Vorgänge auf, die durch viele als entzündungshemmend bekannte Substanzen nicht beeinflussbar sind.

Da bei der Tuberkulinreaktion einerseits Promethazin und Chlorpromazin, und anderseits Phenoxybenzamin eine Hemmwirkung gezeigt hatten (12), untersuchten wir im hier bearbeiteten Test weitere Vertreter von Antihistaminica und Antihypertensiva. 5 der 4 geprüften Antihistaminica wirkten gleichsinnig. Da Pyribenzamin aus der Reihe fiel, darf aber nur mit Vorbehalt angenommen werden, dass die anfängliche Entzündungshemmung eine Antihistaminicawirkung darstellt. Immerhin könnte — auch im Hinblick auf das Auftreten von Mastzellen in der Läsion (10) — Histamin als eine der bei der Entzündung und beim Zellzerfall freiwerdenden Mediatorsubstanzen eine Rolle spielen.

Unter den untersuchten Antihypertensiva zeigte Phenoxybenzamin erneut eine klare Hemmwirkung. Wir neigen zur Annahme, dass dessen Verwandtschaft zum Stickstoff-Lost dafür verantwortlich ist. Azapetin, das von ganz ähnlicher chemischer Struktur ist, die Chloräthylgruppe aber nicht besitzt, wirkte deutlich schwächer. Guanethidin, chemisch ganz anders konstituiert, dessen antihypertensive Wirkung besonders auf einer Beeinflussung der Speicherfunktion der sympatischen Granula beruht, zeigte keinen sicheren Effekt.

Auf Grund früherer Arbeiten ist bekannt, dass Pertussis-Vaccine die Tuberkulinreaktion hemmt (19). Wurde dabei der Impfstoff 4 Tage vor der Auslösung der Reaktion gegeben, war eine leichte Steigerung der Reaktion zu beobachten. Diese Reaktionssteigerung mittels Vorbehandlung mit Pertussis-Vaccine liess sich an unserem Entzündungsmodell bestätigen. Hemmeffekte durch Extrakte aus B. pertussis, die ebenfalls nachgewiesen wurden, werden an anderer Stelle beschrieben. Wir erhalten damit einen weiteren Anhaltspunkt, dass Stoffe aus Pertussisorganismen immunologische Reaktionen zu beeinflussen vermögen.

Die Ueberprüfung der Ergebnisse zeigt, dass von den untersuchten Antiphlogistica besonders Prednisolon, Chlorochin und Phenylbutazon wirksam waren. Da diese Stoffe in der Behandlung der primär chronischen Poyarthritis im Vordergrund stehen, könnte auf gewisse Analogien zwischen dem vorliegenden Entzündungsmodell und chronisch entzündlichen Krankheiten mit möglicherweise immunopathologischer Genese geschlossen werden. Es existiert kaum ein anderes Entzündungsmodell, das auf sämtliche dieser drei klinisch wirksamen Stoffe anspricht.

Zusammenfassung

Die Injektion homologer Lymphocyten in die Haut junger Hühnchen ruft eine lokale immunologische Reaktion mit „graft-versus-host" Komponenten hervor. Diese sich über eine Woche erstreckende Entzündung wurde zur Untersuchung einer Reihe von antiinflammatorisch aktiven Substanzen benutzt. Die Wirksamkeit solcher Stoffe liess sich auch bezüglich der Entzündungsphase differenzieren. Während Antihistaminica und Prednisolon die Entzündung hauptsächlich in der Anfangsphase abschwächten, zeichnete sich Phenylbutazon durch eine besondere Hemmwirkung in den späteren Phasen aus. Chlorochin war durchgehend aktiv. Phenoxybenzamin und Immunosuppressiva waren ebenfalls wirksam. Das Problem der Korrelation zwischen der pharmakologischen Beeinflussbarkeit des Entzündungsmodells und dem klinischen Effekt der entsprechenden Stoffe wird diskutiert.

Summary

The injection of homologous fowl lymphocytes into the skin of chickens causes a local immune reaction with graft-versus-host components. This inflammation lasting about one week was used to test a number of drugs with anti-inflammatory effects. The chemicals could be differentiated with regard to their pattern of activity at different stages of the reaction. Antihistaminic drugs and prednisolone inhibited the early phase of the reaction, whereas phenylbutazone had a more delayed effect. Chloroquine was effective during the whole course of the reaction. Furthermore, phenoxybenzamine and immunosuppressive drugs were active. The problem of the correlation between the experimental susceptibility of the investigated inflammatory reaction and the clinical effect of the respective substances is discussed.

Die Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von P.D. Dr. med. Georg L. Floersheim ausgeführt.

Literatur

1. — Lawrence, H. S. *Bull. rheum. Dis.*, 1962, *12*, 279.
2. — Ziff, M. *Amer. J. Med.*, 1961, *30*, 1.
3. — Mackay, I. R. und Burnet, F. M. *Autoimmune Diseases*, C. Thomas, Springfield, Illinois, U.S.A., 1963.
4. — Glynn, I. E. und Holborow, E. J. *Autoimmunity and Disease*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1965.
5. — Hammerman, D. *Amer. J. Med.*, 1966, *40*, 1.

6. — Floersheim, G. L. *Z. Naturwiss-med. Grundlagenforsch.*, 1965, *2*, 307.
7. — Cock, A. G. und Simonsen, M. *Immunology*, Lond., 1958, *2*, 103.
8. — Terasaki, P. I. *J. Embryol. exp. Morph.*, 1959, *7*, 394.
9. — Warner, N. L. *Austr. J. exp. Biol. med. Sci.*, 1964, *42*, 417.
10. — Floersheim, G. L. und Seiler, K. *Transplantation*, 1967, in press.
11. — Jago, M. *Brit. J. Haemat.*, 1956, *2*, 439.
12. — Floersheim, G. L. *Helv. physiol. pharmacol. Acta*, 1964, *22*, 92.
13. — Brent, L. *Mechanisms of Hypersensitivity*, Boston, Little, Brown and Co., 1959.
14. — Gowans, J. L. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1962, *99*, 432.
15. — Andre, J. A., Schwartz, R., Mitus, W. S. und Dameshek, W. *Blood*, 1962, *19*, 334.
16. — Waksman, B. H. *Cellular Aspects of Immunity*, Ciba Foundation Symposium, J. A. Churchill Ltd., 1960.
17. — Domenjoz, R. *Med. Pharmacol. exp.*, 1966, *14*, 321.
18. — Warner, N. L. und Burnet, F. M. *Austr. J. exp. Biol. med. Sci.*, 1961, *39*, 235.
19. — Floersheim, G. L. *Int. Arch. Allergy*, 1965, *26*, 340.

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

The ARCHIVES publish original papers in the field of experimental pharmacology. They are published every month, two monthly issues making up one volume of 500 pages. Subscription price per year (six volumes) : 3.000,- Belg. Fr. ($ 60). Price per volume : 500 - Belg. Fr. ($ 10).

Manuscripts should be typewritten on one side of the paper, double spaced and preferably in duplicate, and may be presented in English, French, German, Italian or Russian. An english summary should be provided in all cases.

The *first* page should mention in capital letters, in the order : Name and Address of the Institution where the work was carried out. Title of the paper, Author's initial(s) of surname(s) and name(s), and a Running Title.

Papers should be concise and include the following *major headings*, typed in capitals : a brief introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Summary, Acknowledgments (if any), References. Minor headings should be arranged to indicate their relative importances.

References should be indicated in the text by consecutive numbers in parentheses thus (1, 2), the full reference being cited in a numbered list under References at the end of the text. If there are more than two authors, the name of the first only is given in the text, followed by the words *et al.* The full reference should contain the names of all the authors in capitals, followed by their initials, the title of the journal (preferably abbreviated according to the List of Scientific Periodicals edited by S. Karger, Basel and New York, 3rd edition, 1964), year, volume number (underlined) and first page. References to books should include title, publisher's name, place of publication, edition year and number of pages.

Footnotes to text or tables should be indicated by the following symbols : (^{1}), (^{2}), (^{3}), (^{4}) commencing anew on each page or table.

Tables and Figures should be kept to a minimum and constructed so as to be completely intelligible. The same information should not be reproduced in both tables and figures. All illustrations should be cited in the text; the places in the text to which they relate should also be indicated in the margin. Diagrams and graphs should be drawn with Indian ink on stout paper; photographs (black and white) should be submitted on glossy paper. The following standard symbols should be used on all line diagrams : ○ ● △ ▲ □ ◆ ⊖ ⊕ ▽ ▼. Illustrations for reproduction should be at least twice the final size required. They should be numbered and marked on the back with the author's name. Titles and legends for illustrations should be typewritten on separate sheets, but symbols and explanations may appear directly on the figures if space permits. Generic or chemical *names of drugs* should be used, the trade or registered name, with capital letter and trademark symbol®, being indicated once in a footnote.

Fifty free *reprints* will be provided. Additional reprints may be purchased at reasonable cost upon returning the reprint order form which is supplied with the page proofs that are sent to the authors for correction. Excessive author's alterations of type or illustrations on proof may be charged to the author. Rejected manuscripts are returned; accepted manuscripts are not returned. Neither the editors, the editoral board, nor the publishers are responsible for any expressions of data or opinions, all of which are published on the sole responsibility of the author(s).

All manuscripts and correspondence, possibly mentioning the number given to the manuscript after acceptance, should be addressed to the *Editors, Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, A. Baertsoenkaai, 3, Gent, Belgium.*

Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, Volume 169, Number 2.

G. L. LAGE, D. OETH AND J. L. SPRATT, Effect of chlordane and DDT pretreatment on the metabolism of H^3-digoxin by monkey heart and liver tissue *in vitro*, p. 255-261.

S. C. HARVEY, T. S. SULKOWSKI AND D. J. WEENIG, Effect of tyramine on plasma catecholamines, p. 262-287.

C. T. LIU, K. ANDERSON, B. NORMAN AND F. J. ROSENBERG, Evaluation of muscle relaxants in post-tetanic fibrillation of the dog, p. 288-294.

T. P. PRUSS AND R. JOHNSON, Involvement of the sympathetic nervous system and adrenal medulla in the arterial pressure response to tilting, p. 295-301.

A. NAVA-RIVERA, A. GUTIÉRREZ-LÓPEZ, A. FÉREZ A., AND J. EISENBERG W., Action of prilocaine on the vagus nerve and on adrenaline induced extrasystole in dogs, p. 302-307.

A. NAVA-RIVERA, A. GUTIÉRREZ-LÓPEZ, A. FÉREZ A., AND J. EISENBERG W. Influence of procaine, lidocaine and prilocaine on the adrenaline contraction of isolated strips of rabbit aorta, p. 308-311.

J. R. BOISSIER, P. SIMON ET J. F. GIUDICELLI, Effects centraux de quelques substances adréno- et/ou sympatholytiques. II. — Action sur la motilité spontanée et potentialisation du pentobarbital, p. 312-319.

J. BASTIDE, P. BASTIDE, P. MALET, J. P. TURCHINI ET G. DASTUGUE, Activités cholinestérasiques dans le rein de rat au cours de l'intoxication expérimentale au nitrate d'uranyle (étude biochimique et histochimique), p. 320-327.

P. A. KHAIRALLAH, I. H. PAGE AND R. K. TÜRKER, Some properties of prostaglandin E_1 action on muscle, p. 328-341.

W. GUMUŁKA AND W. KOSTOWSKI, The influence of imipramine on peripheral action of some catecholamines, p. 342-347.

F. BERGMANN, J. MKWANANZI AND A. D. KORCZYN, Action of phentolamine on respiratory reflexes in the rabbit, p. 348-353.

J. A. GYLYS, Anorectic agents and progressive ratio in the rat, p. 354-361.

N. WATZMAN, H. BARRY, III, W. J. KINNARD, JR. AND J. P. BUCKLEY, Influence of certain parameters on the performance of mice on the rotarod, p. 362-374.

E. TÓTH, G. FASSINA AND E. SANTI SONCIN, Cardiovascular and lipid mobilizing effects of tetrahydroisoquinoline, p. 375-383.

J. T. HITCHENS, S. GOLDSTEIN, I. SHEMANO AND J. M. BEILER, Analgesic effects of irritants in three models of experimentally-induced pain, p. 384-393.

J. D. GRUß, F. W. KRÜGER UND M. HÖBEL, Über die Ausscheidung von $^{131}J^-$ in das Bronchotrachealsekret von Meerschweinchen. III. Analyse des Sekretes, p. 394-402.

J. H. GREEN AND P. F. HEFFRON, Observations on the origin and genesis of a rapid sympathetic rhythm, p. 403-411.

M. COHEN, A comparative study of anticholinergic psychotomimetic agents in mic and dogs, p. 412-420.

T.C. WESTFALL AND G. P. ANDERSON, Influence of nicotine on catecholamine metabolism in the rat, p. 421-428.

V. D. WIEBELHAUS, F. T. BRENNAN, G. SOSNOWSKI, A. R. MAASS, J. WEINSTOCK AND A. D. BENDER, The natriuretic and diuretic characteristics of triamterene in the dog, p. 429-451.

K. SEILER, Prüfung von Antiphlogistica an einer immunologischen Entzündung des Hühnchens, p. 452-468.

A. BAUDINE, F. CHAILLET, R. CHARLIER ET A. HOSSLET, Recherches dans la série des benzofurannes. XXVI. Effets pharmacologiques généraux de l'amiodarone, p. 469-481.

R. R. PARADISE, Antiarrhythmic activity of lidocaine and N-isopropyl-P-nitrophenyl ethanolamine (INPEA) in acetyl strophanthidin-induced arrhythmias, p. 482-493.

H. E. REIS AND P. A. VAN ZWIETEN, Hypotensive effect of hydralazine, injected into the vertebral artery of the cat, p. 494-499.

Author index, p. 500-504.

ST. CATHERINE PRESS, TEMPELHOF 37 BRUGGE, BELGIUM.